

THESIS

MUNICH

1966

Über
Auswirkungen der Hyperkalzämie
auf die akute
Pankreasnekrose im Tierexperiment

von

PETER STADLER

1966

LANE MEDICAL LIBRARY
STANFORD UNIVERSITY
300 PASTEUR DRIVE
PALO ALTO, CALIF.



Digitized by the Internet Archive
in 2026

Aus der II. Medizinischen Klinik der Universität München
(Direktor: Prof. Dr. Dr. G. Bodechtel)

ÜBER AUSWIRKUNGEN DER HYPERKALZÄMIE AUF DIE AKUTE
PANKREASNEKROSE IM TIEREXPERIMENT

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
verfaßt und einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Ludwig Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

PETER STADLER

M ü n c h e n

1 9 6 6

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter:	Prof. Dr. M. M. Forell
Mitberichterstatter:	Prof. Dr. Dr. G. Bodechtel
Dekan:	Prof. Dr. R. Zenker
Tag der mündlichen Prüfung:	14.6.1966

INHALTSÜBERSICHT

	Seite
EINLEITUNG :	2
^M METHODIK :	3
VERSUCHE MIT KALZIUM :	6
BLUTBEURTEILUNG :	7
a) Der Normaltiere	7
b) Der Tiere mit Pankreasnekrose	8
MAKROSKOPISCHE BEURTEILUNG :	9
A) DAS PANKREASGEWICHT:	9
a) Bei unvorbehandelten Tieren	9
b) Bei vorbehandelten Tieren	10
B) PARENCHYMNEKROSEN UND HAEMORRHAGIEN:	10
a) Bei unvorbehandelten Tieren	10
b) Bei vorbehandelten Tieren	11
C) DER ASCITES :	12
ERGEBNISSE ZUR AKTIVITÄT UND ZU DEN AKTIVIERUNGS- VERSUCHEN DES HOMOGENATES :	13
A) SPONTANAKTIVITÄT :	13
B) AKTIVIERUNG DES HOMOGENATES DURCH ENTEROKINASE:	13
a) pH-Abhängigkeit	14
b) Abhängigkeit von der Serunkalziumkonzentration	15
c) Bei Tieren mit 45 Min.bestehender Pankreatitis	16
d) Bei Tieren mit 24 Std. bestehender Pankreatitis	17
C) AKTIVIERUNG DES HOMOGENATES DURCH ENTEROKINASE UND KALZIUM:	18
D) AKTIVIERUNG DES HOMOGENATES DURCH TRYPSIN	18
a) Bei unvorbehandelten Tieren	18
b) Bei vorbehandelten Tieren	19
E) AKTIVIERUNG DES HOMOGENATES DURCH TRYPSIN+KALZIUM	19
F) AKTIVIERUNG DES HOMOGENATES DURCH CHYMOTRYPSIN UND GALLE:	19
DISKUSSION DER ERGEBNISSE :	20
ZUSAMMENFASSUNG :	24
LITERATURVERZEICHNIS :	25

E I N L E I T U N G .

Schmackpfeffer (1817) und Cleasson (1842) beschrieben zum ersten Mal eingehend das Krankheitsbild der akuten haemorrhagischen Pankreasnekrose. Seither wurden viele Theorien aufgestellt, um ihre Aetiologie und Pathogenese zu klären. Bis heute ist es jedoch nicht gelungen, dieses Problem in allen Einzelheiten zu lösen. Die naheliegendste und einleuchtendste Theorie, die auch heute noch diskutiert wird, geht auf den Pathologen Chiari zurück, der von einer Selbstverdauung der Drüse sprach. Die Schwierigkeit, diesen Vorgang zu erklären, liegt nach Becker (4) darin, "daß viele Sonderformen zu dem gleichen Ergebnis führen können, daß eine haemorrhagisch-tryptische Pankreatitis durch canaliculäre, vasculäre und nervale Faktoren eingeleitet werden kann, ohne daß ein solcher Vorgang verallgemeinert werden darf."

Obwohl es bis jetzt noch nicht gelungen ist, eine bedeutende proteolytische Aktivität im Pankreasödem oder im Blut nachzuweisen, wurde für die Selbstverdauung der Drüse das Trypsin verantwortlich gemacht, da die patho-histologischen und biochemischen Untersuchungen diesen Schluß nahe legen. Es müßte folglich zu einer Aktivierung des im Pankreas gespeicherten Trypsinogens kommen, wie sie normalerweise durch Enterokinase im Duodenum bewirkt wird. Im Falle einer vorzeitigen Aktivierung im Pankreas selbst könnten andere Zytokinasen dafür verantwortlich gemacht werden. Sind geringste Mengen aktiven Trypsins entstanden, so wird der Vorgang durch Autokatalyse beschleunigt. Günstig beeinflußt wird die Aktivierung des Trypsinogens noch durch Kalziumionen.

Die Wirkung der Kalziumionen bei Versuchen in vitro besteht nach Haverback (15) in einem Schutz des Trypsins vor der Selbstverdauung. So wird die selbstständige Abnahme des Trypsinogens ohne Anwesenheit von aktivem Trypsin im Pankreassekret auch während einer Inkubation bei 37° C verhindert. Bei Anwesenheit von Kalziumionen erfolgt eine Autokatalyse des Trypsinogens durch Trypsin.

Das Verhalten des Trypsininhibitors erklären beim Hunde Kalser und Grossmann (21). Sie fanden bei der L-Äthionin-Pankreatitis

eine Zunahme des freien Trypsins in den Drüsengängen und eine gleichzeitige Abnahme des Inhibitors. Dyce und Haverback (15) untersuchten die beiden Trypsininhibitoren des Serums und stellten bei Patienten mit einer akuten Pankreasnekrose einen Anstieg des Inhibitors der α_1 - Globulinfraktion und ein völliges Verschwinden desjenigen Inhibitors fest, der mit den α_2 - Globulinen wandert.

Obwohl in der Literatur schon mehrfach Zusammenhänge zwischen Hyperparathyreoidismus und Pankreatitis beschrieben worden sind (7, 18, 20, 22, 29), wurde die Wirkung des Kalziums auf die akute Pankreasnekrose in vivo noch nicht eingehend untersucht. Hueper (17) konnte durch hohe Dosen von Parathormon im Tierversuch Nekrosen mit sekundären Kalkeinlagerungen in der Bauchspeicheldrüse erzeugen.

Auch Dawson und Struthers, so wie Hanes beschrieben ähnliche Fälle. Zufällige Zusammenhänge scheinen dies nach den oben angegebenen Wirkungen des Kalziums nicht zu sein. Die Auffassung, daß die Pankreatitis die Primärerkrankung darstellt und sie die Ursache eines Hyperparathyreoidismus ist (7) wäre aus denselben Gründen von vornherein unwahrscheinlich.

Das Ziel der vorliegenden Arbeit war es daher, den Einfluß des Kalziums auf das Pankreas und die experimentelle Pankreatitis der Ratte zu untersuchen.

M E T H O D I K .

Es wurden männliche Albinoratten vom Stamme Sprague-Dawley mit Gewichten zwischen 130 und 270 Gramm, die unter Standardfütterung mit Altronin-Trockenkost und Wasser standen, zu den Versuchen herangezogen. Sie wurden in Äthernarkose nach etwa 14 stündigem Nahrungsentzug operiert, dabei folgten wir im Wesentlichen dem Vorgehen von Heinkel (16). Die Ratten wurden in Rückenlage fixiert und das Abdomen durch einen Schnitt in der Medianlinie vom processus ensiformis bis zum Nabel eröffnet. Das Duodenum ist dann unter dem rechten Leberlappen leicht zu erkennen; es wird mit einer anatomischen Pinzette hervorgezogen und ausgebreitet, dabei stellt sich der Pankreaskopf dar, durch den der ductus choledo-

chus führt und der dann spitzwinklig an der papilla vateri in das Duodenum einmündet. Der ductus choledochus wird nun bis zur Leberpforte weiter verfolgt, dort freipräpariert und mit einer Diefenbachklemme so abgeklemmt, daß dabei die in unmittelbarer Nachbarschaft liegende Pfortader nicht verletzt oder mit abgeklemmt wird. Man verhindert damit einen Rückstau der in das Pankreas zu injizierenden Flüssigkeit in die Leber. Mit einer Kanüle der Größe 12 oder 14 durchsticht man nun das Duodenum etwa 1-2cm oberhalb und gegenüber der papilla vateri, um in gleicher Richtung mit dem ductus choledochus die Kanüle durch die Papille in diesen etwa 1 cm tief einführen zu können. Der ductus choledochus wird nun während der Injektion und noch 2 Minuten lang danach an der Stelle, an der die Kanüle liegt, mit dem Finger abgeklemmt, um auch einen Rückfluß der Injektionsflüssigkeit in das Duodenum zu verhindern. Die Injektionen erfolgten aus der Hand, nachdem wir in einer eigenen Versuchsreihe von 6 Tieren feststellen konnten, daß die Schwankungsbreite in den Werten zwischen Injektionen aus der Hand und solchen unter konstantem Druck von 150 cm Wassersäule etwa gleich war. Es zeigte sich im einzelnen, daß Injektionen aus der Hand eine Schwankungsbreite von ± 5 , die Injektion unter konstantem Druck aber eine solche von ± 4 Gamma hatten.

Injiziert wurden 0,6 ml 0,9 %iger NaCl-Lösung, 0,6 ml 2 %iger Natriumtaurocholatlösung, 1 mg Trypsin, das in 0,6 ml aqua bidest. gelöst war und 0,25 bzw. 0,125 m CaCl_2 - Lösung. Nach der Injektion wurde das Abdomen durch eine Muskel- und Hautnaht verschlossen. Die Tiere blieben nach der Operation mit Ausnahme von Wasser weiterhin ohne Nahrung bis sie 45 Minuten bzw. 24 Stunden post operationem getötet wurden. Die Tötung erfolgte durch Anlegen eines Pneumothorax in Äthernarkose. Es wurden dann aus dem noch schlagenden Herzventrikel 2 ml Blut zur Amylase- und Trypsininhibitor-Bestimmung entnommen und nach dem völligen Entbluten des Pankreas extirpiert, 10 sec. bei 20 000 Umdrehungen im ULTRA-TURRAX homogenisiert und bis zu den sich gleich daran anschließenden Bestimmungen im eiskühlten Wasserbad aufbewahrt. Homogenate, die während der Nacht in der Kühltruhe bei -25°C aufbewahrt waren, wurden in der Statistik nicht berücksichtigt.

Anfangs bestimmten wir die Enzymkonzentrationen im Homogenat nach Verdünnung im Verhältnis 1:20 des Pankreasgewichtes mit Wasser. Im Folgenden hielten wir es aber für vorteilhafter, den absoluten Enzymgehalt der Drüse zu ermitteln, was durch die Auffüllung der unterschiedlichen Homogenatvolumina auf einheitlich 20 ml erreicht wurde. Zum Ansatz wurde dann davon 0,1 ml genommen, wodurch eine Endverdünnung von 1:200 entstand. Wir verwendeten dazu nicht mehr Aqua bidest., sondern Tyrodelösung. Die Aktivität des Homogenates lag bei der Aufbereitung in Tyrodelösung höher als bei der Aufbereitung in Wasser. Für beide Methoden war eine äußerst exakte Exstirpation des Pankreas erforderlich. Es durften weder Fettgewebe noch Lymphknoten mit entfernt oder Parenchym zurückgelassen werden.

Im Homogenat wurden bestimmt:

1. der pH-Wert mittels pH-Meter.
2. die Gesamtproteasen nach Anson (1,2) in der von Rick (25) angegebenen Modifikation.
3. das Trypsin nach Bratton-Marshall in der Modifikation von Schön et al. mit dem Substrat N-Benzoyl-DL-arginin-beta-naphtyl-amid Hydrochl. von Riedel und Wunsch (26). Als Farb-reagenz wurde N-(1-Naphtyl)-aethylendiamin-dihydrochl. verwendet. Die Messung erfolgte im Zeissphotometer Elko III mit dem Filter S 57 E, für die Bestimmung nach Anson mit dem Filter S 75 E bei einer Küvettenschichtdicke von 0,5 cm. Die Maßeinheiten beziehen sich auf das vom Trypsin pro Zeiteinheit und Temperatur abgebaute Beta-Naphtylamin in Gamma/0,1 ml Homogenat-Ansatz und die Proteasen nach Anson in Gamma abgebautes Rinderhaemoglobin/0,1 ml Homogenatansatz.

Im Serum wurden bestimmt:

1. die Amylase nach Somogyi. Die Amylase-Aktivität wird dabei angegeben durch die Menge (mg%) Glucose, die in 15 Minuten aus Stärke freigesetzt wird.
2. der Trypsininhibitor. Hier wurde dem Serumansatz von 0,025 ml = 100 Gamma kristallines Trypsin⁺ im Überschuß hinzugegeben,

⁺ zweimal kristallinisiertes Trypsin der Fa. Worthinton/USA

dann 10 Min. bei 37°C vorinkubiert und die verbleibende Aktivität gemessen. Die Aktivitätsabnahme der hinzugegebenen 100 Gamma Trypsin entspricht dem Trypsininhibitorgehalt und wird in Gamma-Trypsinhemmung/Ansatz angegeben. Der 100 Gamma Trypsinleerwert wurde mit den übrigen Ansätzen 10 Min. bei 37°C mit inkubiert.

3. die Serum-Kalziumkonzentration nach der Methode von Rappaport und der Bearbeitung von Führ.

VERSUCHE MIT KALZIUM

Ausgehend von den früheren Anschauungen, daß die Pankr^eatitis durch einen biliopankreatischen Reflux ausgelöst wird, injizierten Forell, Genewein und Werle (13) taurocholsaures Natrium und, um die Wirkung von Trypsin auf das Pankreas zu studieren, aktives Trypsin in den ductus pancreaticus der Ratte und fanden dabei makroskopisch das Bild einer haemorrhagischen Pankreatitis. Da Kalziumionen bei der Aktivierung des Trypsins eine große Rolle spielen, wurde geprüft, ob durch Injektion von 0,6 ml einer 0,25m CaCl_2 -Lösung direkt in den ductus pancreaticus Veränderungen in der Drüse verursacht werden. Diese Flüssigkeitsmenge - als physiologische NaCl appliziert - verursacht nur ein vorübergehendes Pankreasödem, das sich nach 24 Stunden wieder zurückbildet. Nach der Injektion von CaCl_2 -Lösung stellten wir nach 24 Stunden eine akute Pankreasnekrose fest mit Haemorrhagien, Parenchym- und Fettgewebsnekrosen, Oedemen schwersten Grades und Ascites (Tabelle 1). Es zeigte sich also ein Krankheitsbild, das sich von den durch Natriumtaurocholat- und Trypsininjektionen erzeugten Pankreasnekrosen kaum unterschied. Um Reizwirkungen, die durch die unphysiologisch hohe Konzentration der injizierten Flüssigkeit hätten ausgelöst werden können, auszuschließen, injizierten wir außerdem isotonische 0,125m CaCl_2 -Lösung. Auch hier zeigte sich dasselbe Bild. Ein Beweis dafür, daß an der Entstehung des Krankheitsbildes allein Kalzium in ionisierter Form verantwortlich ist, ergab sich durch Injektion von 10- und auch 20%iger Kalziumgluconat-Lösung

in den ductus pankreaticus, in welcher Kalzium in sehr geringer Menge ionisiert vorliegt. Durch Injektionen dieser Lösung entstand

N = 10	ÖDEM	HAEMORRHAGIEN	PARENCHYMN NEKROSEN	FETTGEWEBES NEKROSEN	ASCITES
Schweregrad	0 I II III	0 I II III	0 I II III	0 I II III	0 I II III
NaCl	6 4	8 2	10	10	7 3
CaCl ₂	3 4 3	1 3 6	4 6	3 4 3	1 7 2
Na-TAURO- CHOLAT	1 4 1 4	3 4 3	1 4 4 1	1 1 4 4	4 3 2 1
TRYPsin	1 2 7	2 2 6	1 2 3 4	4 4 2	2 3 1 4
Ca-GLUCONAT n = 6	3 3	2 3 1	4 2	5 1	4 1

Tab. 1 Die Ausdehnung der pathologischen Veränderungen nach Einteilung in 4 Schweregrade an je 10 Ratten 24h nach Injektion von 0,6 ml 0,9% iger NaCl-7mol. CaCl₂-, 2% iger Na-Taurocholat -1000 γ Trypsin- und 20% iger Ca-Gluconat (n=6) Lösung in den ductus pankreaticus der Ratte.

nur eine sehr leichte Pankreatitis.

Angeregt durch diese Befunde, versuchten wir nun, bei den Ratten eine Hyperkalzämie zu erzeugen, um dadurch die von verschiedenen Autoren beobachteten Zusammenhänge zwischen Hyperparathyreoidismus und Pankreatitis möglicherweise näher erklären zu können.

Wir beschritten zwei Wege, einen Anstieg der Serunkalziumkonzentration zu erreichen: Einmal durch einmalige Gabe von Parathormon, zum anderen durch wiederholte intravenöse Injektionen von Kalziumchlorid. Mit Parathormon war es uns nicht möglich, bei einer Serie von 5 Ratten eine Erhöhung des Serum-Kalziums zu erreichen, und wir mußten daher zu wiederholten i.v. Injektionen übergehen, um eine Hyperkalzämie zu erzeugen. Letzteren Ratten wurde 5 Tage lang, morgens und abends je 1 ml 0,125 m Kalziumchloridlösung intravenös gespritzt.

B L U T B E S T A N D I N G E.

a) Normaltiere.

Gesunde Ratten hatten im Durchschnitt einen Serunkalziumspiegel von 9,2 mg%. Durch die CaCl₂-Injektionen erhöhte sich der Kalziumgehalt auf durchschnittlich 16,9 mg%, wobei dem Durchschnitt die Werte von 20 Tieren zugrunde gelegt wurden. Die Schwankungsbreite betrug durchschnittlich $\pm 3,7$ mg%.

b) Tiere mit Pankreasnekrose.

Im Nüchternserum dieser Tiere bestimmten wir die Amylase sofort, 45 Minuten und 24 Stunden nach der Operation. Sie betrug nüchtern bei den Normaltieren im Durchschnitt 1700 mg%, stieg dann sofort nach der Operation um durchschnittlich 600 mg% und blieb bis 24 Stunden post operationem auf dieser Höhe. Unterschiede zwischen unvorbehandelten und mit Kalzium vorbehandelten Tieren oder Unterschiede zwischen den einzelnen Serien mit verschiedenen Pankreatitiden waren nicht signifikant.

Die Bestimmung des Serumtrypsininhibitors in verschiedenen Abständen nach der Operation gelang uns nicht, da bei den geringen Mengen nur Citrat-Blut hätte verwendet werden können, Natriumcitrat aber schon allein eine Hemmung vortäuschte. Wir mußten uns also darauf beschränken, die Hemmung im Serum getöteter Tiere zu bestimmen. Die Werte dafür lagen zwischen 43 und 53 Gamma/0,025 ml Serum. Ein Unterschied zwischen mit Kalzium vorbehandelten und unvorbehandelten Tieren konnte dabei nicht festgestellt werden. Auch bei in vitro Zusatz von CaCl_2 zum Serum hatte dies keinen Einfluß auf die Trypsinhemmung.

DIE MAKROSKOPISCHE BEURTEILUNG.

A) DAS PANKREASGEWICHT.

a) Bei unvorbehandelten Tieren.

Bei Injektionen von physiologischer Kochsalz-Lösung bildet sich ein Ödem, das sich im Anstieg des Pankreasgewichtes manifestierte. Dieses stieg 45 Minuten post injektionem im Durchschnitt von 0,87 auf 1,65 g an. Subtrahiert man das Gewicht der injizierten Flüssigkeit vom Pankreasgewicht, dann ergibt sich ein Anstieg um 0,17 g auf 1,04 g. Nach 24 Stunden ist das Ausgangsgewicht wieder erreicht (Abb. 2).

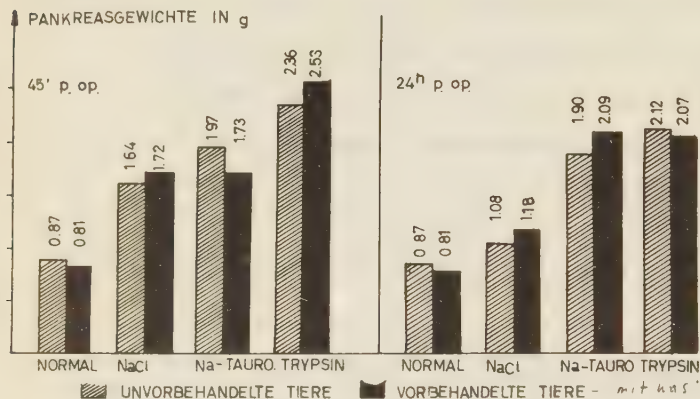


Abb. 2 Die durchschnittlichen Pankreasgewichte von je 10 vorbehandelten und 10 unvorbehandelten Tieren. 0.6 ml 0.9% ige NaCl-, 2% Na-Taurocholatlösung und 1000 r Trypsin in den ductus pancreaticus injiziert wurde. Links 45', rechts 24 h p. op. im Vergleich zu den Gewichten von je 10 unvorbehandelten und vorbehandelten Normaltieren.

Anders verhält sich das Gewicht der Pankreata von Tieren, denen Natriumtaurocholat injiziert wurde. Sie stiegen innerhalb der ersten 45 Minuten auf 1,97 g, abzüglich 0,6 g also auf 1,37 g an. 24 Stunden nach Beginn der Pankreatitis ist das Pankreas 1,90 g schwer, es hat also nahezu das 2 1/2 fache des normalen Gewichtes erreicht.

Noch eindrucksvoller verläuft die Entwicklung des Ödems bei der Trypsinpankreatitis. 45 Minuten nach der Injektion von aktivem Trypsin wiegt das Pankreas 2,36 g, ohne das Gewicht der injizierten Flüssigkeit 1,76 g. Das Pankreas hat also 45 Minuten post

injektionen schon das Doppelte seines normalen Gewichtes erreicht und steigt dann noch innerhalb 24 Stunden auf 2,12 g an.

b) Bei mit Kalzium vorbehandelten Tieren.

Ein Unterschied zwischen den Tieren, die 5 Tage lang intravenös mit CaCl_2 vorbehandelt wurden und unvorbehandelten Tieren ist bei den einzelnen Gewichten nicht sehr groß.

Am deutlichsten ist ein Unterschied bei der Gruppe von Tieren mit Trypsinpankreatitis nach 45 min. und bei der Gruppe mit Taurocholpankreatitis nach 24 Stunden zu sehen. Das Gewicht der mit CaCl_2 -Lösung vorbehandelten Tiere liegt nach 45 Minuten um 0,22 g höher und nach 24 Stunden um 0,19 g als das der Vergleichsgruppe. Die höchsten Pankreasgewichte werden bei der Trypsinpankreatitis nach 45 Minuten gefunden.

B) DIE PARENCHYMNEKROSEN UND HAEMORRHAGIEN.

Für die makroskopische Beurteilung einer akuten Pankreasnekrose lassen sich nur schwer objektive Normen aufstellen. Wir sind daher dazu übergegangen, das Ausmaß der Parenchymnekrosen oder der Haemorrhagien in drei Schweregrade einteilen, obwohl sich auch dabei subjektive Fehler nicht völlig vermeiden lassen (Tabelle 1).

a) Bei unvorbehandelten Tieren.

Durch Injektion von 0,6 ml einer 0,9%igen NaCl -Lösung entstanden Haemorrhagien ersten Grades bei 2 von 10 Tieren. Diese sind wohl dadurch zu erklären, daß das Rattenpankreas ein Fassungsvermögen von etwa 0,4 ml hat, 0,6 ml aber injiziert werden und dadurch doch recht

erhebliche Zerreibungen des Pankreas zustande kommen. Parenchym- und Fettgewebsnekrosen traten bei keinem der Tiere auf. Über die übrigen Pankreatitiden läßt sich an Hand der Tabelle vergleichend sagen, daß Haemorrhagien, Parenchymschäden nicht aber Fettgewebsnekrosen, am stärksten bei der Trypsinpankreatitis auftraten und daß Pankreatitiden die durch Natriumtaurocholat und CaCl_2 erzeugt wurden, im ganzen nicht in solch schweren Maße verliefen. Vergleicht man nun die Natriumtaurocholat- und Kalziumchloridpankreatitis miteinander, so sieht man, daß Haemorrhagien und stärkste Ödeme vermehrt bei der durch CaCl_2 erzeugten Pankreatitis auftraten, während sich Fettgewebsnekrosen in schwerster Form bei der Taurocholatpankreatitis fanden.

b) Bei vorbehandelten Tieren.

Von Interesse war es ferner, ob sich ein Unterschied im makroskopischen Bild der Pankreasnekrose zeigte zwischen Tieren, die unvorbehandelt waren und solchen, die mit CaCl_2 -Lösung vorbehandelt wurden. In Tabelle 2 ist dieser Unterschied für die Taurocholat-

n = 8	HAEMORRHAGIEN	PARENCHYMNEKROSEN	FETTGEBWESNEKROSEN	ASCITES
Schweregrad	0 I II III	0 I II III	0 I II III	0 I II III
unvorbehandelt	5 1 2	5 3	2 3 3	4 2 2
Mit CaCl_2 vorbehandelt	2 4 2	3 2 3	1 2 2 3	3 2 2 1

Tab. 2 Die Ausdehnung der pathologischen Veränderungen nach Einteilung in 4 Schweregrade an je 10 Ratten 24h nach Injektion von 0.6 ml 2%iger Na - Taurocholat - Lösung. Bei unvorbehandelten und mit CaCl_2 -Lösung vorbehandelten Tieren

pankreatitis aufgezeigt, und es geht daraus hervor, daß Haemorrhagien und Fettgewebsnekrosen etwa im gleichen Maße auftraten, Parenchymnekrosen aber in größerem Ausmaß bei den vorbehandelten Tieren entstanden. Drei von acht Tieren hatten Schädigungen dritten Grades dieser Art, während bei den unvorbehandelten Tieren Schädigungen diesen Grades nicht beobachtet wurden. Auch hatten bei den vorbehandelten Ratten nur drei Tiere Parenchymschäden ersten Grades im Gegensatz zu den unvorbehandelten Tieren bei denen fünf verhältnismäßig leichte Parenchymschäden aufwiesen. Tabelle 3 zeigt diesen Unterschied bei der durch Trypsin erzeugten Pankreatitis. Der Kontrast ist hier noch erheblich stärker. Von acht vorbehandelten Tieren hatten fünf Parenchymnekrosen

stärksten Grades, während Parenchymschäden dieser Schwere bei den unvorbehandelten Tieren nur in einem Fall auftraten.

n = 8	HÄMORRHAGIEN	PARENCHYMNEKROSEN	FETTGEBWESNEKROSEN	ASCITES
Schweregrad	0 I II III	0 I II III	0 I II III	0 I II III
unvorbehandelt	2 2 4	1 3 3 1	3 3 2	2 3 1 2
Mit CaCl vorbehandelt	1 3 4	1 2 5	1 3 1 3	3 1 4

Tab. 3 Darstellung der pathologischen Veränderungen wie Abb. 4 für die durch 1000 γ Trypsin erzeugten Pankreasnekrose.

Andererseits zeigten sich Schäden leichteren Grades häufiger bei den unvorbehandelten Tieren. Fettgewebsnekrosen treten normalerweise bei der Trypsinpankreatitis nicht in sehr schweren Maß auf. Es fand sich aber, daß durch die Vorbehandlung Tiere mit Trypsinpankreatitis Fettgewebsnekrosen stärksten Grades bekamen. Auch Haemorrhagien deuteten auf eine Verlagerung zur Verschlechterung. Wir sind uns aber durchaus im Klaren, daß eine genaue Beurteilung dieser Unterschiede nur durch den histologischen Befund ^{möglich} ist, den zu erheben uns aber bei den zur Verfügung stehenden Möglichkeiten nicht gegeben war.

Ein Unterschied wies auch die Mortalitätsquote auf. Von elf ^{un}vorbehandelten Tieren mit Trypsinpankreatitis starb innerhalb der ersten 24 Stunden nur ein Tier, was einer Sterblichkeit von ca. 9% entspricht, während diese bei den vorbehandelten Tieren bei 30% lag. In dieser Gruppe starben von zehn Tieren drei.

C) DER ASCITES.

Ascites bis zu 2 ml wurde dem Schweregrad I, 2-5 ml dem Schweregrad II und über 5 ml dem Schweregrad III zugeordnet. Drei von zehn unvorbehandelten Tieren, denen NaCl-Lösung in das Pankreas injiziert wurde, hatten allerdings Ascites zweiten Grades, der aber möglicherweise durch Sekretion aus dem Stichkanal zustande kam (Tabelle 1).

Vergleicht man unvorbehandelte und Kalzium-vorbehandelte Tiere mit Taurocholatpankreatitis, so fallen die größeren Ascitesmengen bei den vorbehandelten Tieren auf. Der Unterschied ist allerdings gering (Tabelle 2). Dasselbe gilt für die Trypsinpankreatitis (Tab. 3).

ERGEBNISSE ZUR AKTIVITÄT UND ZU DEN AKTIVIERUNGSVERSUCHEN DES HOMOGE- NATES.

A) SPONTANAKTIVITÄT.

a) Bei Kalzium-vorbehandelten Tieren.

Im Laufe unserer Versuchsreihen konnte in keinem Fall weder bei unvorbehandelten noch bei vorbehandelten Tieren eine tryptische Spontanaktivität gefunden werden. Auch die Annahme, daß durch Anwesenheit von Kalziumionen eine tryptische Spontanaktivität auftritt, bestätigte sich nicht. Dasselbe gilt für die Bestimmung der proteolytischen Gesamtaktivität nach Anson. Ergänzend sei noch gesagt, daß eine pH-Verschiebung ebenfalls zu keiner Spontanaktivität führte.

B) AKTIVIERUNG DER HOMOGENATE DURCH ENTEROKINASE.

Im Folgenden betrug die Zahl der Tiere, aus denen die Durchschnittswerte errechnet wurden, bei den Normal- und NaCl-Tieren 20, bei Tieren mit Taurocholat- und Trypsinpankreatitis je 10. Da sich Normal- und NaCl-Tiere in den weiteren Versuchen zur Aktivitätsbestimmung der Homogenate nicht unterscheiden, werden diese beiden Gruppen zusammengefaßt. Es wird daher im Folgenden nur von Normaltieren gesprochen.

Um das Trypsinogen und die Vorstufen der übrigen Enzyme zu erfassen und über eventuelle Verschiebungen dieser Enzyme etwas aussagen zu können, versetzten wir die Ansätze mit 300 Gamma Enterokinase[†], die in 0,3 ml Kochsalzlösung gelöst waren. Die Ansätze wurden 10 Minuten bei 37°C vorinkubiert. In Vorversuchen aktivierter wir die Homogenate mit Rattenenterokinase. Zu diesem Zweck wurde Rattenduozenum sorgfältig gereinigt, homogenisiert und dann den Ansätzen zugegeben. Dabei konnten wir wesentlich höhere Aktivitäten erzielen, als vergleichsweise mit kristalliner Enterokinase. Da

[†]Enterokinase der Farbwerke Hoechst.

wir aber keine absoluten Werte anstreben, sondern nur den Vergleich von unvorbehandelter und vorbehandelter, gesunden und kranken Tieren suchten, war es nicht notwendig, das Homogenat mit Entero-kinase maximal zu aktivieren.

Um normale und pathologische Pankreata miteinander vergleichen zu können, war es notwendig den Einfluß von Natriumtaurocholat und Trypsin auf das Homogenat in vitro zu untersuchen, um ihn bei den Ergebnissen berücksichtigen zu können. Zu diesem Zweck wurde das Homogenat eines Normaltieres in drei Teile zu je 6,6 ml geteilt. Das Homogenat I wurde mit 0,2 ml = $\frac{1}{3}$ der normalen Injektionsmenge 2%iger Natriumtaurocholat-Lösung versetzt, das Homogenat II mit 0,2 ml = 330 Gamma Trypsin und das Homogenat III mit 0,2 ml Tyrodelösung, davon 0,1 ml zum Ansatz genommen und die Aktivierbarkeit des Trypsinogens und der Proteasenvorstufen bestimmt.

Es zeigte sich zwischen den drei Homogenaten kein Unterschied, weder in der Trypsinogenaktivität, noch in der gesamten proteolytischen Aktivität. Die unterschiedlichen Werte zwischen den Homogenaten lagen durchaus in der Schwankungsbreite der Methode, so daß also eine Eigenwirkung der in das Pankreas injizierten Flüssigkeit auf das Homogenat ausgeschlossen werden konnte. Auch zeigte sich an anderer Stelle, daß die sehr geringe Menge von 0,2 ml 0,125 m Kalziumchloridlösung auf 6,66 ml Homogenat keinen Einfluß hatte.

a) Die pH-Abhängigkeit der Aktivität.

Der pH-Wert des Homogenates war Schwankungen unterworfen. Die Ursache dieser Schwankungen, die sich zwischen pH 6,4 und 7,2 bewegten, konnten wir nicht ermitteln, wir untersuchten aber, ob sich diese Schwankungen auf die Trypsinogen- und Proteasenvorstufenaktivierbarkeit auswirkte (Abb. 3). Es wurden für diese Kurve die Werte unvorbehandelter Normaltiere herangezogen. Es zeigte sich eine pH-Abhängigkeit für die Trypsinogenaktivierbarkeit.

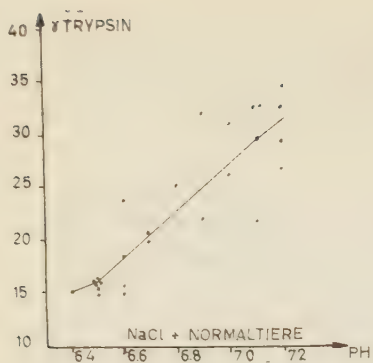


Abb.3 Die Abhängigkeit der Trypsinogenaktivierbarkeit durch Enterokinase, ausgedrückt in Gamma nachgewiesenen Trypsins, von den pH-Werten der Homogenate normaler Tiere.

Bei Änderungen des pH-Wertes, die wir mit HCl und NaOH vornahmen zeigte sich von pH 4 ab ein Ansteigen der Aktivität bis bei pH 7 der Maximalwert erreicht wurde, der bis pH 9 unverändert hoch blieb.

b) Die Abhängigkeit der Aktivierbarkeit des Homogenates von der Kalzium-Konzentration des Serums.

Eine Abhängigkeit der Aktivierbarkeit der Homogenate von der Serumkalziumkonzentration war nicht zu finden, wenn man die gesamten Versuchsserien in einer gemeinsamen Kurve zusammenfaßte. Es fiel jedoch auf, daß die Werte bei einzelnen Serien verschieden hoch lagen. Es war daher notwendig die einzelnen Tagesserien getrennt zu betrachten. Dabei stellte sich bei den vorbehandelten Normaltieren eine Abhängigkeit heraus. Homogenate von Tieren mit höherer Serumkalziumkonzentration waren besser zu aktivieren. Dies gilt für das Trypsinogen ebenso wie für die proteolytische Gesamtaktivität. Berücksichtigt man die beiden Tiere einer Versuchsserie mit der niedrigsten und der höchsten Serumkalziumkonzentration, so ist bei acht von zehn Serien ein deutlicher Anstieg der Aktivierbarkeit festzustellen. Dieser Anstieg betrug für das Trypsinogen durchschnittlich 86% und für die Gesamtaktivität 21%. Bei einer Serie war kein Anstieg, bei einer weiteren ein geringer Abfall zu beobachten (Tabelle 4).

SERIE	Tiere mit niedrigster und höchster Serum - $[Ca^{++}]$ einer Versuchsreihe	Trypsinogen in r/0,1ml	Anstieg in %
I	8.7 mg % 15.8 mg %	27 42	55
II	8.8 mg % 11.3 mg %	20 29	45
III	9.9 mg % 12.4 mg %	33 38	15
IV	10.2 mg % 10.8 mg %	25 39	56
V	11.5 mg % 13.2 mg %	15 25	67
VI	12.2 mg % 17.6 mg %	25 22	-12
VII	12.7 mg % 15.2 mg %	17 31	82
VIII	13.2 mg % 13.8 mg %	23 23	0
IX	14.3 mg % 20.0 mg %	25 32	28
X	14.5 mg % 17.1 mg %	23 33	43

SERIE	Tiere mit niedrigster und höchster Serum - $[Ca^{++}]$ einer Versuchsreihe	Proteasen vorstufen	Anstieg in %
I	7.7 mg % 16.5 mg %	55 65	18
II	8.7 mg % 12.5 mg %	41 58	41
III	8.8 mg % 11.3 mg %	42 52	24
IV	10.2 mg % 10.8 mg %	52 61	17
V	9.9 mg % 12.4 mg %	43 47	9
VI	12.2 mg % 17.6 mg %	41 38	-7
VII	12.7 mg % 18.3 mg %	55 67	22
VIII	13.2 mg % 15.8 mg %	47 76	62
IX	14.3 mg % 15.2 mg %	49 50	2
X	14.5 mg % 16.5 mg %	55 70	27

Tabl.4 Die Abhängigkeit der Aktivierbarkeit der Komogenate von der Serumkalziumkonzentration. Sie ist dargestellt durch die Tiere mit der niedrigsten und der höchsten Kalziumkonzentration im Serum.

c) Aktivität der Homogenate von Tieren mit 45 Minuten bestehender Pankreatitis.

Gesunde Tiere hatten nach der Methode von Anson eine durchschnittliche Aktivität von 46 Gamma/0,1 ml Homogenat (Tabelle 5). Bei Tieren

Unvorbehandelte Tiere	Proteasen-vorstufen	Trypsinogen
Normaltiere n = 20	46	25
Taurocholatl-Pankreatitis n = 10	38	17
Trypsin-Pankreatitis n = 10	35	17

Tabl.5 Erklärung s. Text.

mit Taurocholatlpankreatitis war ein Abfall auf 38 Gamma und bei den Trypsin-Tieren ein Abfall auf 35 Gamma festzustellen. Noch deutlicher war dieser Verlust bei den Werten für das Trypsinogen. Dies ist umso bemerkenswerter, als diesen Tieren 1000 Gamma aktives Trypsin in das Pankreas injiziert wurde.

Normal - Tiere	Proteasen - vorstufen	Trypsin - ogen
unvorbehan - delt n = 20	46	25
vorbehan - delt n = 20	57	25

Tabl.6 Erklärung s.Text(n=20)

Trypsinogen(Tabelle 6).Vergleicht man in der Versuchsreihe Kal-

Vorbehandelte Tiere	Proteasen - vorstufen	Trypsin - ogen
Normal - Tiere n = 20	57	25
Taurocholat Pankreatitis - n = 10	31	12

Tabl.7 Erklärung s.Text(n=10)

Ganz anders verhalten sich aber die vorbehandelten Tiere mit

Trypsin - Pankreatitis	Proteasen - vorstufen	Trypsin - ogen
unvorbe - handelt n = 10	35	11
vorbehan - delt n = 10	45	19

Tabl.8 Erklärung s.Text(n=10)

Bei den mit Kalzium intravenös vorbehandelten Normaltieren war im Vergleich zu den unvorbehandelten Tieren ein Anstieg der Aktivierbarkeit von Proteasenvorstufen um 11 Gamma festzustellen.Dies gilt nicht für das zium vorbehandelter Tiere die Normal- und Taurocholat-Tiere(Tabelle 7), so zeigt sich deutlicher als bei den unvorbehandelten Tieren eine Abnahme von Vorstufen der Gesamtproteasen und des Trypsinogens.

Trypsinpankreatitis (Tabelle 8).Bei diesen ist nicht,wie nach den Ergebnissen der unvorbehandelten Tiere zu erwarten wäre,ein noch stärkerer Abfall zu verzeichnen,sondern sie hatten nahezu normale Enzymwerte im Homogenat.

d) Aktivität der Homogenate von Tieren mit 24 Stunden bestehender Pankreatitis.

Nach 24 Stunden hat sich das Bild in den Enzymwerten der Drüse wesentlich geändert.Homogenate unvorbehandelter Tiere mit Tauro-

Unvorbehandelte Tiere	Proteasen - vorstufen	Trypsin - ogen
Normaltiere n = 20	46	25
Trypsin - Pankreatitis n = 10	44	20
Kalzium - Pankreatitis n = 6	60	36

Tabl.9 Erklärung s.Text(n=6)

zeugte damit eine Pankreatitis,so unterschieden sich diese Homogenate in ihren Enzymwerten von den anderen (Tabelle 9).Es zeig-

cholatl- und Trypsinpankreatitis unterschieden sich in den Enzymwerten nicht mehr von denen der Normaltiere.Die Vorbehandlung mit Kalziumionen änderte an diesen Ergebnissen nichts.Injizierte man allerdings 0,6 ml einer 0,125 m CaCl_2 -Lösung in den ductus pancreaticus und erzeugte damit eine Pankreatitis,so unterschieden sich diese Homogenate in ihren Enzymwerten von den anderen (Tabelle 9).Es zeig-

te sich ein deutlicher Anstieg von Trypsinogen und den Vorstufen der Gesamtproteasen.

C) AKTIVIERUNG DER HOMOGENATE DURCH ENTEROKINASE + KALZIUM.

Ergänzend untersuchten wir, ob auch durch in vitro Zusatz von 0,1 ml 0,25 M CaCl_2 -Lösung zusammen mit 300 Gamma Enterokinase das Homogenat starker aktiviert würde als mit Enterokinase allein.

Bei acht Homogenaten war die durchschnittliche Trypsinaktivität nach Aktivierung durch Enterokinase ohne Kalzium 24 Gamma, mit Kalzium dagegen 32 Gamma. Bei den Gesamtproteasen war dieser Unterschied nicht so signifikant, er betrug 63 Gamma ohne und 73 Gamma nach Kalziumzusatz.

D) AKTIVIERUNG DER HOMOGENATE DURCH TRYPSIN.

Für die Aktivierung durch Trypsin wurde den Homogenaten 30 Gamma Trypsin zugesetzt und mit diesem 10 Minuten bei 37°C vorinkubiert. Drei 30 Gamma Trypsinkontrollwerte wurden mitbestimmt und die gefundenen Aktivitäten bei der Berechnung berücksichtigt. Bei der Bestimmung nach Bratton-Marshall war eine Trypsinogenaktivierung nicht zu erreichen, da die zugesetzten 30 Gamma Trypsin vollständig gehemmt wurden. Zwischen den Normaltieren einerseits und Tieren mit den verschiedenen Pankreatitiden andererseits zeigten sich bei dieser Art der Aktivierung keine nennenswerten Unterschiede. Deshalb wurden bei den folgenden Untersuchungen nur die Werte der proteolytischen Aktivität berücksichtigt.

Interessant war, daß Trypsin allein trotz der Hemmwirkung des Homogenates fähig war, eine zusätzliche Aktivierung von Proteasen herbeizuführen. Dabei fiel auf, daß die Aktivitätswerte der Tiere die mit Kalzium vorbehandelt wurden, deutlich höher lagen als die der unvorbehandelten. Das besagt, Homogenate normaler Tiere mit hohem Serumkalziumspiegel ließen sich durch 30 Gamma Trypsin leichter aktivieren (Abb. 4). Zur Kontrolle wurde einer Serie von

Tieren statt Kalziumchlorid physiologische NaCl fünf Tage lang i.v. injiziert, um nachzuweisen, daß die gesteigerte Aktivierbarkeit durch die Kalziumchlorid-Vorbehandlung verursacht wurde.

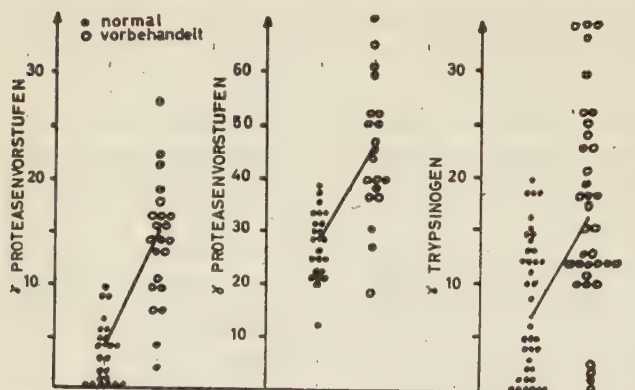


Abb.4 Aktivierbarkeit von Proteasen durch 30 Trypsin.
Abb.5 u. 6 Aktivierbarkeit von Proteasenvorstufen und Trypsinogen durch 30 Trypsin+0,1ml 0,125 m $CaCl_2$ - Lösung.

Erwartungsgemäß war deren Aktivierbarkeit so hoch wie die der Normaltiere.

E) AKTIVIERUNG DES HOMOGENATES DURCH TRYPSIN + KALZIUMZUSATZ.

Auch durch diese Art der Aktivierung war zwischen den normalen und pathologischen Homogenaten kein Unterschied zu erkennen. Es konnte aber eine Trypsinogenaktivierung, die durch Trypsin allein nicht möglich war, durch Kalziumzusatz erreicht werden. Wie Abb. 5 zeigt, wird auch durch diese Aktivierungsart eine höhere proteolytische Aktivität erreicht als bei den unvorbehandelten Tieren. Die Werte für die Aktivierung des Trypsinogens liegen bei den vorbehandelten ebenfalls höher als bei den unvorbehandelten Normaltieren (Abb.6).

F) AKTIVIERUNG DES HOMOGENATES DURCH CHYMOTRYPSIN UND GALLE.

Der Nachweis einer Aktivierung des Trypsinogens durch Chymotrypsin gelang auch nach Zusatz von Kalziumionen nicht. Mit der Bestimmung nach Anson wurde, wie wir in einem Kontrollversuch feststellten, nur die Hälfte des hinzugegebenen Chymotrypsins erfaßt. Zugabe von Kalzium änderte an den Ergebnissen nichts.

Durch Galle alleine, sowie durch Zusatz von Kalzium war keine Aktivierung möglich.

DISKUSSION DER ERGEBNISSE.

Da den proteolytischen Enzymen eine führende Rolle im Verlauf einer haemorrhagisch-tryptischen Pankreasnekrose zukommt, war es von Bedeutung, das Verhalten und die Reaktionsweise dieser Enzyme im Tierversuch zu studieren.

Nicht nur durch Natriumtaurocholat- und Trypsin-Injektionen in den ductus pankreaticus konnte eine akute Pankreasnekrose erzeugt werden, sondern auch durch 0,125 m CaCl_2 -Lösung. Es schien daher von Interesse, ob auch eine intravenöse Kalziumzufuhr Auswirkungen auf den Verlauf einer Pankreatitis und auf den Enzymgehalt der Drüse hat.

Die akute tryptisch-haemorrhagische Pankreasnekrose, erzeugt durch Natriumtaurocholat-Injektion, zeigt bei den Tieren, welche eine Hyperkalzämie hatten, einen stärkeren pathologischen Befund. Dies manifestierte sich nicht so sehr am Ausmaß der Haemorrhagien und der Fettgewebsnekrosen, vielmehr fanden wir vorwiegend deutliche Nekrosen des Parenchyms, zusätzlich bei der Trypsinpankreatitis auch im Fettgewebe.

Das Ödem, das nach Ansicht von Becker (4) Popper (23) Richterich (24) ein wichtiger Schlüssel für die Erklärung des schwierigen Entstehungsmechanismus der akuten Pankreasnekrose darstellt, war bei allen Serien vorbehandelter Tiere stärker ausgeprägt als bei den Vergleichsserien, was sich durch die Gewichtszunahme ausdrückt. Eine Ausnahme machen die Tiere mit Taurocholatpankreatitis, die 45 Minuten nach der Operation getötet wurden, und Tiere mit einer Trypsinpankreatitis, die 24 Stunden nach der Operation getötet wurden. Das Pankreas dieser Tiere war völlig autolytisch zerstört, womit das geringere Drüsengewicht erklärt ist.

Ob die akute Pankreasnekrose eine durch vorzeitig aktiviertes

Trypsin verursachte Selbstverdauung der Drüse ist, steht nach wie vor im Brennpunkt der Diskussion, da für diese Annahme noch kein eindeutiger Beweis erbracht werden konnte. Es hat sich allgemein die Meinung durchgesetzt, daß eine tryptische Spontanaktivität auch durch die modernen Aufbereitungsmöglichkeiten der Homogenate mit dem ULTRA-TURRAX nicht nachzuweisen ist. Nagel und Willig (22) haben eine proteolytische "Restaktivität" nachgewiesen und vermutet, daß zwischen Tieren mit normalem und nekrotischem Pankreas ein Unterschied in der Spontanaktivität besteht. Mit Hilfe der Azocaseinspaltung konnten sie zeigen, daß die Restaktivität bei den pathologischen Pankreashomogenaten etwa dreimal so hoch war wie bei den normalen Homogenaten. Die Signifikanz ist bei diesen Ergebnissen gesichert.

Weiter untersuchten wir, ob es zu Verschiebungen im Zymogengehalt der Homogenate kam. Beck und Mitarb (3) fanden zwar einen Abfall des Trypsinogengehaltes bei pankreatitischen Hunden, der sich im Verlauf der Krankheit etwas vergrößerte, den sie aber durch die Verdünnung des Pankreas mit Ödemflüssigkeit und Blut erklärten. Creutzfeldt, Schelling und Ketteler (8) fanden 6 und 24 Stunden nach der Operation einen unveränderten Zymogengehalt, dasselbe bestätigten Gölzow et. al. (14) und Schön, Heinkel und Henning (27). Unsere Ergebnisse stehen hierzu - zumindest für die Tiere, die 45 Minuten p. op. getötet wurden - im Gegensatz. In Übereinstimmung mit Werle konnten wir bei den Proteasenvorstufen einen nicht unwesentlichen und beim Trypsinogen einen sehr deutlichen Abfall gegenüber den Normaltieren feststellen. Bei den vorbehandelten Tieren war dieser noch offensichtlicher. Wir können die Ursachedafür nicht durch einen Verdünnungseffekt erklären, da die Aufbereitung des Pankreas ungeachtet seines Volumens auf einheitlich 20 ml Gesamtvolumen jegliche Verdünnungseffekte ausschloß. Es muß also eine ausschwemmung oder ein Aufbrauch im Pankreas gespeicherter Zymogene stattgefunden haben. Die Ausschwemmung kann nur entweder in den Bauchraum, also in den Aszites, in das Duodenum oder ins Blut erfolgen. Obwohl wir an diesen drei Orten proteolytische Enzymvorstufen nicht nachweisen konnten, könnten dennoch alle drei Wege eingeschlagen

werden. Die Fettgewebsnekrosen im Bauchraum, der hohe Inhibitorgehalt des Ascites und die Fermententgleisung von Amylase und Lipase ins Blut legen diese Vermutung sehr nahe. Indirekte Beweise für die Abwanderung des Trypsins ins Blut sind auch die Abnahme des Kallikreinogens im Blut (Forell 10), das durch Trypsin in das kreislaufwirksame Kallikrein umgewandelt wird und einen Kreislaufkollaps bewirkt. Der Aufbrauch des Trypsinogens in vitro ist nach Haverback möglich durch

1. unspezifischen Abbau des Trypsinogens durch Trypsin,
2. Selbstverdauung von aktivem Trypsin,
3. Bindung von entstandenem aktivem Trypsin an Trypsininhibitoren und
4. Denaturierung des Trypsinogens.

Mit Ausnahme von Punkt 4 ist aktives Trypsin die Voraussetzung für die Abnahme des Trypsinogens. Daraus schließt Werle (31), daß es zu einer intermediären Aktivierung des Trypsins kommt.

Bei Tieren, die 24 Stunden nach der Operation getötet wurden, fanden wir in Übereinstimmung mit den oben genannten Autoren keinen Abfall der Zymogene mehr.

Angeregt durch die in letzter Zeit sehr häufigen Hinweise auf die Bedeutung des Kalziums bei der Katalyse proteolytischer Reaktionen und auch Hinweise über Zusammenhänge zwischen Hyperparathyreoidismus und Pankreatitis, untersuchten wir die Wirkung dieser Ionen auf den Verlauf einer experimentellen Pankreatitis und ihre Wirkung gegenüber den proteolytischen Enzymen des Pankreashomogenates. Creutzfeld (9) findet im Verlauf der Calciphylaxiepankreatitis keine Fermententgleisung, weist aber einen signifikanten Anstieg der Amylase im Pankreashomogenat nach.

Wir konnten feststellen, daß durch Injektionen von 0,125 m CaCl_2 -Lösung in den ductus pancreaticus bei Ratten eine akute Pankreatitis entsteht. Es war auffallend, daß eine höhere Trypsinogenaktivierung mittels Enterokinase oder durch Trypsin + Kalzium zu erreichen war. Es wäre daran zu denken,

daß durch die Anwesenheit von Kalzium der bei den anderen Pankreatitisformen beobachtete Aufbrauch des Trypsins verhindert oder verzögert wird.

Durch die i n t r a v e n ö s e Verabreichung von Kalziumchlorid war es möglich bei Normaltieren die im Pankreas nach Enterokinasezusatz nachweisbare Aktivität der Proteasen und des Trypsins gegenüber unvorbehandelten Tieren zu steigern.

Die Beobachtung, daß höhere proteolytische und tryptische Aktivitätswerte auch i n v i t r o durch Zugabe von Kalziumionen erreicht werden konnten, spricht für eine Änderung der Aktivierung bzw. Inaktivierung und gegen eine vermehrte Zymogenbildung im Pankreas.

Ähnlich wie bei der Kalziumchloridpankreatitis war der Gehalt an Proteasen und Trypsin im Homogenat vorbehandelter Tiere 45 Minuten nach Erzeugung einer Trypsinpankreatitis höher als der unvorbehandelten Tiere.

Aus diesen Befunden schließen wir, daß Kalziumionen durch die wiederholten Injektionen in das Pankreas gelangt sind. Einen zusätzlichen Beweis sehen wir noch darin, daß sich Homogenate von Tieren entsprechend der Höhe ihres Serumkalziumspiegels aktivieren lassen. Ein Zusammenhang zwischen Hyperparathyreoidismus und Pankreatitis könnte hieraus hervorgehen. Auch wäre denkbar, daß ganz allgemein dem Kalzium im Verlauf einer Pankreatitis eine dominierende Rolle zufällt. Das Auftreten von Kalknekrosen und Hypokalzaemie lassen massive Verschiebungen und Verlagerungen dieser Ionen erkennen.

Z U S A M M E N F A S S U N G.

1. Durch Injektion von 0,6 ml 0,25 m Kalziumchlorid-Lösung in den ductus pankreaticus der Ratte konnte eine haemorrhagisch-tryptische-Pankreatitis mit den bekannten Symptomen erzeugt werden.
2. Durch mehrfache intravenöse Verabreichung von 1 ml 0,125 m CaCl_2 -Lösung konnte makroskopisch ein pathologisch schwerer Verlauf des Krankheitsbildes nachgewiesen werden .
3. Eine tryptisch oder proteolytische Spontanaktivität war weder in Homogenaten gesunder noch kranker Tiere zu finden.
4. Homogenate mit Kalzium vorbehandelter Tiere waren stärker aktivierbar, wenn der Serumkalziumspiegel erhöht war.
5. 45 Minuten nach der Operation war bei den pankreatitischen Tieren ein Abfall der Proteasen- und Trypsinogenwerte im Homogenat eingetreten, der bei den hypercalcämischen noch deutlicher ausfiel. Nach 24 stündiger Pankreatitis waren die Zymogenwerte nahezu wieder normal.

LITERATURVERZEICHNIS

1. Anson, M.L.: The Estimation of Pepsin, Thrypsin, Papain and Cath-
epsin with Hemoglobin. J.gen.Physiol. 22, 79 (1939)
2. Anson, M.L. and A.E. Mirsky: Estimation of Thrypsin with Hemoglobin.
J.gen.Physiol. 17, 151 (1933).
3. Beck, I.T., E.J. Pinter, J. Solymark R.D. McKenna, u. A.C. Ritchie: The
Role of Pankreatic Enzymes in the
Pathogenesis of Akute Pankreatitis,
Gastroenterology 43, 1 (1962)
4. Becker, V.: Wesen und Ursachen der tryptischen Pankreatitis
Der Internist 2, 7 (1961)
5. Benzer, H., G. Blümel, u. F. Piza: Einflüsse von Trypsininhibitoren
auf die Blutgerinnung.
Wiener Med. Wschr. 110, 28/29 (1960)
6. Benzer, H., G. Blümel, u. F. Piza: Experimentelle Untersuchungen über
die Wirkungen tryptischer und anti-
tryptischer Fermente auf den Eiweiß-
stoffwechsel u. die Blutgerinnung.
Bruns Beitr. Klin. Chir. 202, 4 (1961)
7. Cope, O., P.J. Culver, C.G. Jr. Mixter, and G.L. Kardi: Pankreatitis, a
diagnostig due to Hyperparathyroidismus.
Ann. Surg. 145, 857 (1957)
8. Creutzfeldt, W., H.D. Sölling, u. H. Ketterer: Intrapankreatische Akti-
vierung von proteolytischen Fermenten und
Trasyololwirkung bei der experimentellen
Pankreatitis der Ratte. Klin. Wschr. 41, 20 (1963)
9. Creutzfeldt, W.: Calciphylaxie und Pankreatitispathogenese.
Verh. Dtsch. Ges. Innere Med. 522, 71 (1965)
10. Dyce, B., and B.J. Haverback: Serum Trypsin Inhibitos in the normal
and in Patients with akute Pankreatitis
Amer. J. Gastroenterologie. 34, 5 (1960)
11. Forell, M.M.: Zur Frage des Entstehungsmechanismus des Kreislauf-
kollapses bei der akuten Pankreasnekrose.
Gastroenterologia. 84, 225 (1955)
12. Forell, M.M. u. W. Dobovienik: Über die Möglichkeit durch Inaktivier-
ung des Trypsin die akute Pankreas-
nekrose kausal zu beeinflussen,
Klin. Wschr. 39, 47 (1961)
13. Forell, M.M., R. Genewein, u. E. Werle: Über die Bedeutung der Galle
und des Trypsins für die Ent-
stehung der akuten Pankreasnekr.
Z. exper. Med. 125, 532 (1955)
14. Gölzow, M., H.J. Trettin: Zur Wirkung des Kallikrein-Trypsin-Inakti-
vator. II. Anwendung bei der experimentellen Pankreas-
Schädigung. Z. ges. exp. Med. 134, 362 (1961)

15. Haverback, B.J., B.Dyce, H.Bundy u. H.A.Edmondson: Trypsin, Trypsinogen and Trypsin Inhibitors in Human Pancreatic Juice. Ann.J.Med. 29,424 (1960)
16. Heinkel, K.: Die Ratte als Versuchstier in der experimentellen Pankreasdiagnostik. Klin.Wschr. 31,1 (1953)
17. Henning, N. u. K.Heinkel: Klin.Wschr. 564 (1952)
18. Hoar, C.S.jr. and R.Gorlin: Hyperparathyroidism and Acute Pancreatitis. New.Engl.J.Med. 258,1052 (1958)
19. Hueper, W.: Metastatic calcifikation in organs after injektion of parathyroid extracts. Arch.Path.Lab.Med. 3,14-25 (1927)
20. Jackson, C.E.: Hereditary Hyperparathyroidism associated with recurrent Pancreatitis. Ann.Intern.Med. 49,1052 (1958)
21. Kalser, M.R. u. M.I.Grossman: Gastroenterologia 26,189 (1954)
22. Nagel u. Willig: Proteolytische Enzyme im Pankreas unter normalen und pathologischen Bedingungen. Klin.Wschr. 42,400 (1964)
23. Plough, I.C. and L.H.Kyle: Pancreatic Insufficiency and Hyperparathyroidism. Ann.Intern.Med. 47,590 (1957)
24. Popper, H.L.: Enzyme Studies in Edema of the Pancreas and Acute Pancreatitis. Surg. (St.Louis) 7,566 (1940)
25. Richterich, E.: Europäisches Pankreassympodium Erlangen (1963)
26. Rick, W. in H.U.Bergmeyer: Methoden zur enzymatischen Analyse. Weinheim (1962)
27. Riedel, A. u. E.Wünsch: N- α -Benzoyl-arginin- β -naphthylamid als Substrat zur quantitativen kolorimetrischen Bestimmung von Trypsin. Z.physiol.Chem.Hoppe-Seylers 316,61 (1959)
28. Schön, H., B.Rassler u. H.Henning: Über die Untersuchung der exkretorischen Pankreasfunktion. Klin.Wschr. 39,217 (1961)
29. Schön, H., K.Heinkel u. H.Henning: Über das Verhalten von Pankreasenzymen bei der experimentellen Pankreatitis der Ratte. Klin.Wschr. 41,12 (1963)
30. Smith, F.B. and R.T.Cooke: Acute fatale Hyperparathyroidism. Lancet 2,650 (1940)
31. Werle, E., M.M.Forell u. L.Maier: Zur Kenntnis der blutdrucksenkenden Wirkung des Trypsins. Arch.exper.Path.u.Pharm. 225,369 (1955)
32. Werle, E., I.Trautschold, H.Sebening, H.Fritz u. M.Hutzel: Enzym-Inhibitoren des exokrinen Pankreas. Dtsch.Ges.f.Innere Med. 801,70 (1964)
33. Witte, S., K.Heinkel, H.Henning u. P.Dirnberger: Das Verhalten der Blutgerinnungsfaktoren während der Äthioninpankreatitis der Ratte. Z.ges.exp.Med. 121 (1953)

An dieser Stelle möchte ich Herrn Professor Dr. M.M. Forell für die immer freundliche Unterstützung bei der Abfassung dieser Dissertation meinen herzlichsten Dank aussprechen. Auch Herrn Professor Dr. Dr. G. Bodechtel sei für die Übernahme des Koreferates gedankt. Mein Dank gilt auch Frau Stahlheber und Fräulein Grohrock für ihre hilfreiche Mitarbeit.

L E B E N S L A U F

Am 5. September 1939 wurde ich als Sohn des Bankkaufmanns Gustav Stadler und seiner Ehefrau Amely, geb. Sterle in Ravensburg geboren. Dort besuchte ich die Volksschule und anschließend das Neue Gymnasium, an dem ich 1959 die Reifeprüfung ablegte. Im Sommersemester 1959 begann ich in Tübingen das Studium der Medizin, das ich nach dem dritten Semester an der Universität München fortsetzte und im Februar 1966 mit der Ärztlichen Prüfung erfolgreich abschloß.

